



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

⑪ Numéro de publication:

0 145 590
A1

⑫

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

⑲ Numéro de dépôt: 84402475.2

⑤① Int. Cl.: **C 12 C 7/04**

⑳ Date de dépôt: 03.12.84

⑳ Priorité: 06.12.83 FR 8319453

⑦① Demandeur: **BERTIN & CIE, Zone Industrielle Boîte postale 3, F-78373 Plaisir (FR)**

④③ Date de publication de la demande: 19.06.85
Bulletin 85/25

⑦② Inventeur: **Gascoin-Hache, Danielle, 3 Allée de l'Epée, F-78180 Volsins le Bretonneux (FR)**
Inventeur: **Hache, Jean Georges Edouard Joseph, 3 Allée de l'Epée, F-78180 Volsins le Bretonneux (FR)**

④④ Etats contractants désignés: **AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE**

⑦④ Mandataire: **Orès, Bernard et al, Cabinet ORES 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR)**

④⑤ Perfectionnements apportés aux procédés de production de bière.

⑤⑦ Procédé de production de bière, faisant intervenir de la cellulase.

Selon ce procédé, on traite le malt au cours d'une phase préalable d'empâtage, par une cellulase propre à transformer la cellulose cristalline présente dans le malt, en cellulose amorphe, sans modifier la nature des sucres présents dans le produit fini, à savoir la bière obtenue, et on soumet ensuite le malt ainsi traité à des phases de brassage, de fermentation et de filtration dans des conditions connues en elles-mêmes.

La cellulase mise en oeuvre est une cellulase d'origine fongique présentant une activité enzymatique C₁ prépondérante et une faible activité β -glucosidase.

EP 0 145 590 A1

BEST AVAILABLE COPY

- 1 -

La présente invention est relative à des perfectionnements apportés aux procédés de production de bière.

Comme on le sait, c'est au cours des opérations de brassage (qu'elles aient lieu par infusion, par décoction ou
5 par des méthodes mixtes) que les enzymes qui se sont développées dans le malt solubilisent une certaine quantité des matières premières. C'est au cours de ces opérations que les amylases transforment l'amidon en oses et en oligoholosides fermentescibles. C'est au cours de ces opérations également
10 que les protéines sont dégradées par les protéases en polypeptides, peptides et acides aminés.

Ces processus enzymatiques conduisent à la maïsche qui est séparée par exemple par filtration en moût et en drèches.

15 Ces dernières quoique servant à l'alimentation du bétail sont mal valorisées et représentent en poids près du quart du malt introduit pour la préparation des moûts.

C'est la raison pour laquelle il a été proposé dans l'Art antérieur de réaliser une transformation plus complète
20 du malt en moût par l'addition d'enzymes au cours des opérations de brassage.

On a ainsi proposé :

- l'addition de protéases pour provoquer une dégradation plus poussée des protéines contenues dans le malt ;
- 25 - l'addition de l'alpha-amylase pour liquéfier plus rapidement et plus complètement l'amidon du malt ;
- l'addition de la bêta-glucanase pour dégrader les polyholosides dans la paroi cellulaire de l'albumen du malt ;
- l'addition de la glucoamylase, laquelle en hydrolysant les
30 liaisons α -1,4 glucane des polysaccharides, conduit à une augmentation générale du taux final de fermentation du moût.

Toutes ces additions d'enzymes ont pour but de diminuer le poids des drèches et d'utiliser aussi complètement
35 que possible les matières premières mises en jeu. Encore

faut-il que cette diminution du poids des drèches ne soit pas obtenue aux dépens de la stabilité de la bière, ni aux dépens du caractère et de la qualité de la bière obtenue. Ce qui n'était (et de loin) pas le cas pour toutes ces tentatives.

5 Il est à noter qu'aucune des tentatives décrites ci-dessus ne préconise l'addition des enzymes préalablement à l'opération de brassage du malt.

Il a également été proposé d'introduire une cellulase d'origine fongique, provenant de *Trichoderma reesei*, dans la cuve de brassage du malt et de procéder au brassage du malt par chauffage par paliers successivement à 53°C, puis à 63-67°C et enfin à 76°C, l'addition d'une telle cellulase ayant pour effet de dégrader les β -glucanes et les pentosanes présents dans le malt et dans les éventuelles adjonctions de houblon ou de farine de froment au malt, ainsi que dans les parois cellulaires du malt ; un tel traitement a pour résultat d'améliorer considérablement la filtrabilité des moûts obtenus, de réduire leur viscosité et d'augmenter leur rendement [cf. Proc. Inst. of Brew. Aust. + New Zeal. Section, 1980, pages 127-134], pour une addition de cellulase comprise entre 0,03 et 0,05 % du poids du malt ou de la charge de malt + houblon ou farine de froment. L'Article cité plus haut mentionne également que les quatre fractions enzymatiques cellulolytiques séparées par chromatographie par échange d'ions, de cellulase provenant de *Trichoderma reesei*, à savoir deux fractions C₁I et C₁II d'exo-glucanases et deux fractions C_xI et C_xII d'endo-glucanases, et la fraction β -glucosidase BII, améliorent également, mais dans une proportion moindre, la filtrabilité de moûts résultant du brassage de versements de mélanges de malt et de farine de froment ou de malt et de houblon lorsqu'elles sont ajoutées aux versements à des doses aussi faibles que 0,002 à 0,12 % en poids, respectivement, pour la fraction C₁I et que 0,0009 à 0,012 % en poids, respectivement, pour la fraction C_xI, par exemple.

35 Le traitement décrit ci-dessus prévoit bien l'addi-

tion de la cellulase avant l'opération de brassage du malt ; toutefois, le brassage du malt intervient immédiatement après cette addition, dans les conditions bien connues dans l'Art antérieur, par paliers de températures successifs à 52°C, 5 63°C, 76°C, et si l'addition de cellulase a une incidence sur la filtrabilité et le rendement, il ne semble pas qu'elle ait pour effet de réduire le poids des drèches.

La présente invention s'est en conséquence donné pour but de pourvoir à un procédé de production de bière qui 10 répond mieux aux nécessités de la pratique que les procédés visant au même but antérieurement connus, notamment en ce qu'il permet une augmentation considérable du rendement de brassage et une réduction très appréciable du poids des drèches, sans avoir d'effets indésirables sur les caractéristi- 15 ques de la bière telles que sa stabilité, son caractère, sa qualité ou ses propriétés organoleptiques.

La présente invention a pour objet un procédé de production de bière, caractérisé en ce que l'on traite le malt au cours d'une phase préalable d'empâtage, par une cel- 20 lulase propre à transformer la cellulose cristalline présente dans le malt, en cellulose amorphe, sans modifier la nature des sucres présents dans le produit fini, à savoir la bière obtenue, et en ce que l'on soumet ensuite le malt ainsi traité à des phases de brassage, de fermentation et de filtration 25 dans des conditions connues en elles-mêmes.

La Demanderesse a découvert, en effet, que la cellulose cristalline présente dans le malt bloque les enzymes propres du malt développées au cours des opérations de malta- ge de l'orge ; il lui est donc apparu que pour améliorer 30 l'activité enzymatique propre au malt au cours du brassage, il faut éliminer la cellulose cristalline en la transformant en cellulose amorphe, qui n'exerce pas d'effet de blocage sur les enzymes propres du malt.

Il est connu, comme on l'a indiqué plus haut, que 35 la cellulase est un complexe enzymatique à plusieurs compo-

santes dont les trois plus importantes sont :

- la composante C₁, dont la structure est encore mal identifiée, mais qui comprend une exo-cellobiohydrolase et dont la principale propriété est de transformer la cellulose cristalline en cellulose amorphe,
- la composante C_x constituée par des endo-gluconases et dont la propriété est de transformer la cellulose amorphe en produits solubles tels que la cellobiose et le glucose,
- la cellobiase, ou β -glucosidase, qui hydrolyse la cellobiose et les petites chaînes cello-oligosaccharides en glucose, mais n'a aucune action sur la cellulose.

La Demanderesse a donc fondé la présente invention sur le fait que seule une cellulase présentant une activité enzymatique C₁ prépondérante serait apte à atteindre le but qu'elle s'était fixé. En outre, la cellulase à activité enzymatique C₁ prépondérante utilisable dans le cadre de la présente invention doit présenter une proportion de composante cellobiase aussi faible que possible, car dans le cas d'une cellulase présentant une forte proportion de cellobiase, le malt comprendrait une quantité importante de sucres réducteurs provenant de la cellulose et non des sucres réducteurs provenant de l'action des amylases développées lors des opérations de maltage, c'est-à-dire que le produit obtenu, comprenant des sucres différents de ceux que doit contenir la bière, serait un produit autre que de la bière. La Demanderesse a pu établir qu'une cellulase fongique obtenue à partir de *Trichoderma viride* ou de *Trichoderma reesei* répond aux conditions requises conformément à la présente invention.

Selon un mode de réalisation préféré du procédé objet de la présente invention, la cellulase mise en oeuvre est de la cellulase obtenue à partir de *Trichoderma viride* ou de *Trichoderma reesei*.

Selon un autre mode de réalisation préféré du procédé objet de la présente invention, le traitement enzymatique du malt par la cellulase, au cours de la phase d'empâta-

ge, est effectué à une température comprise entre 45 et 50°C.

Selon encore un autre mode de réalisation avantageux du procédé objet de la présente invention, la quantité de cellulase mise en oeuvre est comprise entre 0,05 et 2 %
5 par rapport au poids du malt.

Selon un autre mode de réalisation avantageux du procédé objet de la présente invention, le traitement enzymatique du malt par la cellulase au cours de la phase d'empâtage et l'opération de brassage subséquente, sont réalisés à un
10 pH compris entre 4,5 et 6,5.

Outre les dispositions qui précèdent, l'invention comprend encore d'autres dispositions, qui ressortiront de la description qui va suivre.

La présente invention vise plus particulièrement le
15 nouveau procédé de production de bière conforme aux dispositions qui précèdent, ainsi que les moyens pour sa mise en oeuvre et les procédés d'ensemble dans lesquels est inclus ledit procédé.

L'invention sera mieux comprise à l'aide du complément de description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de mise en oeuvre du procédé conforme à la présente invention.
20

Il doit être bien entendu, toutefois, que ces exemples de mise en oeuvre sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne constituent
25 en aucune manière une limitation.

EXEMPLE 1

On mélange 1 kg de malt broyé avec 4 kg d'eau. Le pH est ajusté entre 4,5 et 6,5 et on agite en chauffant progressivement jusqu'à 40°C.
30

On ajoute alors 200 mg de cellulase préparée à partir de *Trichoderma viride* QM 9414, puis on porte la température du mélange à 45-50°C, et on maintient cette température pendant une heure.

35 On poursuit alors le chauffage de manière à ce que

la montée de la température se fasse à une vitesse de 1°C par minute. Quand la température atteint 52°C, on maintient ce palier pendant 15 minutes. On opère de la même façon à 63°C (palier de 15 minutes) et à 75°C (palier de 10 minutes). Ce
 5 dernier palier (10 minutes à 75°C) a surtout pour objet d'inhiber les enzymes et notamment l'alpha-amylase, avant la filtration de la maïsche.

Caractéristiques du produit obtenu

Le Tableau I ci-après présente les résultats d'un
 10 brassage de référence et d'un brassage conforme à la présente invention.

TABLEAU I

15	Analyses sur le moût	Référence	Avec traitement enzymatique
	. Densité PLATO (°)	13,09	15,37
	. Protéines totales (g/100 ml)	144	182
20	. Trouble (unités EBC)	180	130
	. Maltotriose (g/100 ml)	1,99	1,67
	. Maltose (g/100 ml)	6,65	7,80
25	. Glucose (g/100 ml)	1,22	2,95
	. Fructose (g/100 ml)	0,09	0,37

Par ailleurs, la quantité de drèches est réduite de
 32 %.

30 222 g : pour le brassage de référence,

151 g : pour le brassage conforme à la présente invention.

Il résulte des caractéristiques présentées dans le
 Tableau I que le traitement enzymatique préalable conforme à
 la présente invention aboutit à des résultats extrêmement
 35 intéressants et notamment :

- le moût obtenu est plus concentré en sucres fermentescibles ;
- la quantité des résidus solides est nettement réduite ;
- la concentration en sucres du moût permet de passer à un brassage haute densité, sans être obligé de passer par une évaporation en chaudière ;
- le trouble, exprimé en unités EBC, est réduit.

Les analyses effectuées sur le moût ont de plus démontré que le profil en acides aminés du moût n'est pas perturbé par l'addition de la cellulase.

EXEMPLE 2

On ajoute à 1307 g de mouture humide de malt, 2,5 g de cellulase obtenue à partir de *Trichoderma viride* QM 9414. La température de la masse est portée progressivement (1°C/minute) à 48°C et on maintient à cette température pendant 60 minutes au cours desquelles on laisse agir l'enzyme sur le versement.

On procède alors à l'opération de brassage proprement dite comme décrit à l'Exemple 1, par chauffage par paliers à 52°C, puis 63°C, puis 75°C.

Parallèlement, on effectue un essai témoin dans lequel on soumet 1575 g d'un versement de la même mouture humide de malt à une première phase de chauffage à 48°C pendant une heure, pendant la phase d'empâtage, après quoi on procède à l'opération de brassage dans les mêmes conditions que celles décrites dans l'Exemple 1.

L'essai avec la cellulase et l'essai témoin ont été utilisés, pour la phase de fermentation, la même levure.

Le Tableau II ci-après rassemble les résultats des principales phases du cycle de brassage.

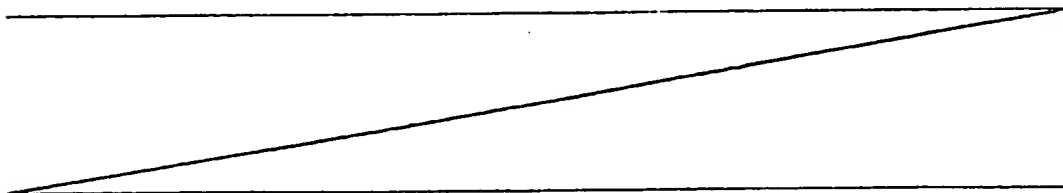


TABLEAU II
RESULTATS COMPOSES DES ESSAIS AVEC CELLULASE
ET SANS CELLULASE

5	<u>ANALYSES</u>	TEMOIN	ESSAI
	<u>BRASSAGE</u>		
	Densité Plato (°)	12,03	12,03
	Alcool (% en poids)	3,8	3,78
	Maltotriose (g/100 ml)	0,11	0,16
10	Maltose (g/100 ml)	0,28	0,22
	Matières amères g. extrait	2,9	2,5
	Versement malt g.	1575	1307
	Durée filtration h.	3	3
	Rendement brassage %	75,4	78,9
15	Poids humide drèches g	1370	999
	Réduction poids drèches humides %	-	26,6
	Hauteur drèches cm	17,5	13,5
	Addition acide H ₃ PO ₄ 1N ml	1,9	1,4
	pH fin filtration	5,81	5,70
20	Evaporation horaire %	5,94	6,93
	<u>FERMENTATION</u>		
	Densité limite °P	2,69	2,46
	Atténuation limite °P	76,8	79,09
	Densité finale fin fermentation °P	3,36	3,11
25	Densité finale fin garde °P	2,95	3,03
	Atténuation fin fermentation %	92,49	92,90
	Atténuation fin garde %	97,08	93,77
	Taux de multiplication des levures	2,1	2,3
	Indice de démarrage	5,8	5,6
30	Unités de temps d'atténuation	73,0	73,0
	<u>FILTRATION</u>		
	Débit de filtration l/h/m ²	78	92

- 9 -

On constate que pour un versement inférieur de 17 % en malt par rapport au témoin, le rendement de brassage est de plus de 3 % supérieur.

La quantité de drèches récoltées est réduite de 26,6 % par rapport au témoin (drèches humides).

Les autres résultats de brassage ne présentent pas de différences importantes, à l'exception du taux de multiplication des levures qui est un peu plus élevé par rapport au témoin et qui dénote un léger changement dans la cinétique de fermentation dans le sens d'une amélioration de cette dernière.

En particulier, la concentration en polyphénols ne présente pas de différence significative par rapport au témoin, dans la bière obtenue en mettant en oeuvre le procédé conforme à la présente invention, ce qui signifie que son goût n'est pas modifié.

Par ailleurs, la bière obtenue par le procédé conforme à la présente invention, ne présente pas, à la filtration, un comportement différent de celui de la bière obtenue par le témoin, ce qui est parfaitement cohérent puisque la présente invention ne cherche pas à améliorer la filtrabilité de la maïsche, comme les procédés connus dans l'Art antérieur qui ajoutent la cellulase au cours de la phase de brassage.

Le Tableau III ci-après rassemble les principales mesures physico-chimiques de la bière obtenue par le procédé témoin et de la bière obtenue par le procédé conforme à la présente invention.

Le Tableau III fait apparaître que les bières issues de brassins traités par la cellulase conformément à la présente invention, ne diffèrent pas de façon significative des bières obtenues par le procédé témoin.

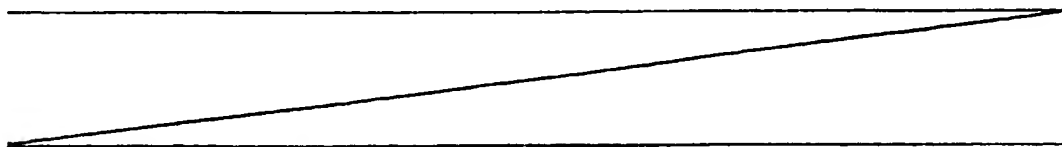


TABLEAU III

		Extrait apparent (Plato)	2,94	4,66	12,03	3,80	4,70	18'30	20,7	6,5	3,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	Rpicatéchine ppm
		Extrait réel (Plato)	4,71	4,66	12,03	3,80	4,70	18'30	20,7	6,5	3,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	Catéchine ppm
		Extrait primitif (Plato)	12,03	12,03	3,80	4,70	18'30	20,7	6,5	3,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	0,30	B 3 ppm
		Alcool en poids	3,78	3,80	4,70	18'30	20,7	6,5	3,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	0,30	0,30	Maltotriose g/100 ml
		Alcool en volume	4,67	4,70	18'30	20,7	6,5	3,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	0,30	0,30	0,30	Maltose g/100 ml
		Mousse	17'2	18'30	20,7	6,5	3,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	0,30	0,30	0,30	0,30	Saccharose g/100 ml
		Amerume EBC	22,6	20,7	6,5	3,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	O ₂ dissous ppm
		Couleur EBC	7,7	6,5	3,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	Test 7/1
		Brillance 0°C	2,7	3,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	Brillance 20°C
		Brillance 20°C	0,5	1,0	> 12	0,01	—	0,28	0,11	2,19	2,98	0,18	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	Test 7/1

5

10

15

20

25

30

35

0145590

- 11 -

Ainsi que cela ressort de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes de mise en oeuvre, de réalisation et d'application qui viennent d'être décrits de façon plus explicite ; elle en embrasse au contraire toutes les variantes qui peuvent venir à l'esprit du 5 technicien en la matière, sans s'écarter du cadre, ni de la portée, de la présente invention.

REVENDICATIONS

1°) Procédé de production de bière, caractérisé en ce que l'on traite le malt au cours d'une phase préalable d'empâtage, par une cellulase propre à transformer la cellulose cristalline présente dans le malt, en cellulose amorphe, sans modifier la nature des sucres présents dans le produit fini, à savoir la bière obtenue, et en ce que l'on soumet ensuite le malt ainsi traité à des phases de brassage, de fermentation et de filtration dans des conditions connues en elles-mêmes.

2°) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la cellulase mise en oeuvre est une cellulase présentant une activité enzymatique C₁ prépondérante et une faible activité β -glucosidase.

3°) Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que ladite cellulase est une cellulase d'origine fongique.

4°) Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que ladite cellulase est de la cellulase obtenue à partir de *Trichoderma viride* ou de *Trichoderma reesei*.

5°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le traitement enzymatique du malt par la cellulase, au cours de la phase d'empâtage, est effectué à une température comprise entre 45 et 50°C.

6°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la quantité de cellulase mise en oeuvre est comprise entre 0,05 et 2 % par rapport au poids du malt.

7°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le traitement enzymatique du malt par la cellulase au cours de la phase d'empâtage et l'opération de brassage subséquente, sont réalisés à un pH compris entre 4,5 et 6,5.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

0145590

Numéro de la demande

EP 84 40 2475

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.4)
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 92, no. 23, 9 juin 1980, page 512, no. 196308y, Columbus, Ohio, US; V.A. MARINCHENKO et al.: "Effect of fungal cellulase preparations on the enzymic activity of malt" & PRIKL. BIOKHM. MIKROBIOL. 1979, 15(6), 897-901. * Résumé *	1,3,7	C 12 C 7/04
A	--- CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 93, no. 11, 15 septembre 1980, page 558, no. 112267u, Columbus, Ohio, US; S. HOME: "Stimulation of malting with microbial enzymes" & MALLAS OLUT 1980, (1), 21-25 (FINNISH) * Résumé *	1	
A	--- CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 94, no. 17, 27 avril 1981, page 600, no. 137755k, Columbus, Ohio, US; V.A. MARINCHENKO et al.: "Fermentation of wort from a starch-containing raw material prepared using cellulases" & IZV. VYSSH. UCHEBN. ZAVED., PISHCH. TEKHNOL. 1980, (6), 142-143 * Résumé *	1	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.4) C 12 C
X	--- DE-A-2 451 046 (C.H. BOEHRINGER SOHN) * Revenidcations 1,4,5,7; exemples 1-3 * -----	1,6,7	
Le présent rapport de recherche a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche LA HAYE		Date d'achèvement de la recherche 22-02-1985	Examineur COUCKE A.O.M.
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons</p> <p>& : membre de la même famille, document correspondant</p>			

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.